

エソ肉糊の加熱ゲル形成能の季節的変動

八島 郁子, 市川 寿
野崎 征宣, 田端 義明Seasonal Variation in Gel Forming Ability of
Lizard Fish MeatIkuko YASHIMA, Hisashi ICHIKAWA,
Yukinori NOZAKI, and Yoshiaki TABATA

Seasonal variation in gel forming ability of meat paste from lizard fish was investigated by heating and the biochemical characteristics of proteins comprising the heated gel were examined.

Gel forming ability (Jelly strength: J.S.) by heating at 40°C as *suwari* (setting) temperature was lowest in July, and highest in March. J.S. at 60°C as *modori* (disintegration) temperature was also lowest in July. However, *modori* was not observed from November to March.

Suwari gel solubility in SDS-urea solution initially increased inversely proportional to the gel formation.

The amount of the myosin heavy chains in the gel, as measured by SDS-PAGE, decreased with the *suwari* development, and new-formed low molecular proteins was not observed. It might be due to the polymerization of myosin heavy chains. On the other hand, in July, the amount of myosin heavy chains decreased with the *modori* development and the special components, 151k, 132k, 112k, 38k, 28k and 12kDa were formed and increased in amount. In March, new-formed low molecular proteins were not observed. It was estimated the decomposition of polymerized myosin heavy chains to contribute at *modori*.

Key words: 季節的変動 seasonal variation; 産卵期 spawning season; ゲル形成能 gel forming ability; 坐り *suwari*; 戻り *modori*; エソ lizard fish.

魚介類の肉質は、季節によって変動することが良く知られている。その要因には、成長や性成熟の度合、餌料の変化、水温等環境の変化などが考えられている。¹⁾このような肉質の変動に伴い、塩摺り肉の加熱ゲル形成能にも季節的変動が生じることが経験的に知られており、原料魚種によっては、ねり製品を製造するにあたって、この点の留意が必要であるといわれている。²⁾しかし、加熱ゲル形成能の季節的変動の実態とそのメカニズムを科学的に検討した研究はほとんど見当たらない。

本研究では、かまぼこ原料として西日本で多用さ

れるエソを試料として、加熱ゲル形成能の季節的変動を把握し、その原因をタンパク質化学的に知ることを目的とした。

実験方法

材料 供試魚にはワニエソ (Lizard fish, *Saurida wanieso*) を用いた。長崎県橘湾産のエソ鮮魚 (平均体長35cm, 平均体重348g) を用い、1991年6月から1992年7月までの期間について比較検討した。実験に用いた魚の鮮度 (K値) は、1992年6月のものが20.4%であった他はいずれも10%以下であり、良好

であった。なお、産卵期にあたる試料については生殖腺重量を測定し、魚体重量(g)に対する生殖腺重量(g)の百分率を生殖腺指数(gonadsomatic index; 以下GSIとする)として求めた。

加熱ゲルの調製 供試魚の頭部および内臓を除去し、冷水中で洗浄した。これを二枚に卸し、スタンプ式採肉機(穴径5mm)を用いて落し身とした。次に、落し身に対し5倍量の冷蒸留水を加え、清水晒しする操作を3回繰り返した。晒し肉は、直ちにろ布に入れ、油圧式脱水機で過剰の水を除き、5°Cの低温室内で肉挽機(穴径3mm)にかけてミンチ肉とした。その5gを取り、赤外線水分計(Kett FD-1 B型)で含水率を測定した。播漬は、ミンチ肉重量に対し3%量のNaClを加え、含水率が81%になるように、冷蒸留水を加えながら、5°Cの低温室内で30分間、石川式攪拌播漬機を用いて行った。

播漬後、肉糊をステンレスリング(内径32mm, 高さ30mm)に充填し、ラップで包み、40°C, 60°Cおよび90°Cの各温度で5~120分間加熱を行った。加熱後、氷水中で30分間急冷し、低温室(5°C)に保管した。

物性値(Jelly Strength; 以下J.S.と略す)の測定および加熱ゲルの可溶性率の測定は、加熱ゲルを室温に戻してから行った。

ゲル強度の測定 加熱ゲルを厚さ20mmの試験片とし、RHEO TEX(サン科学 SD-305型)を使用して直径5mmの球面プランジャーを試験台の上昇速度0.6mm/secで押しあて、破断時の応力(g)と凹み(cm)を測定し、その積をJ.S.(g・cm)とした。

SDS-urea 混液による加熱ゲルの可溶化と可溶性率の測定 沼倉らの方法³⁾に準じて、加熱ゲルを乳鉢を用いて破碎、均質化したのち、その0.4gを精秤し、7.5mlの2% SDS, 8M urea, 2% 2-mercaptoethanol, 20mM Tris-HCl(pH 8.0)溶液を加えてホモジナイズし、100°Cで2分間加熱した。さらに室温で約20時間攪拌しながら可溶化した。この溶液から一部をSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動用試料として採取した後、残液を0.1% SDS, 5mM Na-phosphate緩衝液(pH 7.2)に対して透析した。この溶液のタンパク質濃度をBiuret法⁴⁾により測定した。次に、残液を10,000×gで20分間遠心分離後、上清を取り、タンパク質濃度をBiuret法により求めた。遠心分離前のタンパク質濃度に対する遠心分離後の上清のタンパク質濃度の百分率を可溶性率とした。

SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動 SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動(以下SDS-PAGEと略す)は、PorzioとPearsonの方法⁵⁾により8%と12.5%濃度のアクリルアミドゲルを用いて行った。染色は、Coomassie Brilliant Blueによって行った。泳動された各タンパク質成分のバンドは、デンストメーター(島津製作所 二波長フライングスポットスキャナCS-9000型)を用い、380nmと580nmの吸光度差を測定した。各成分の含量は、泳動ゲル上の全成分の染色強度に対する各成分の染色強度を百分率で表示した。

実験結果

ゲル形成能の季節的变化 エソ肉糊を、40°C, 60°Cおよび90°Cの各温度で種々の時間加熱してゲルを調製し、J.S.を測定した。そのうち、坐りを起こす温度帯として40°Cで60分間加熱したゲルのJ.S., 戻りを起こす温度帯として60°Cで20分間または120分間加熱したゲルのJ.S.およびタンパク質の熱凝固が起こる温度帯として90°Cで20分間加熱したゲルのJ.S.

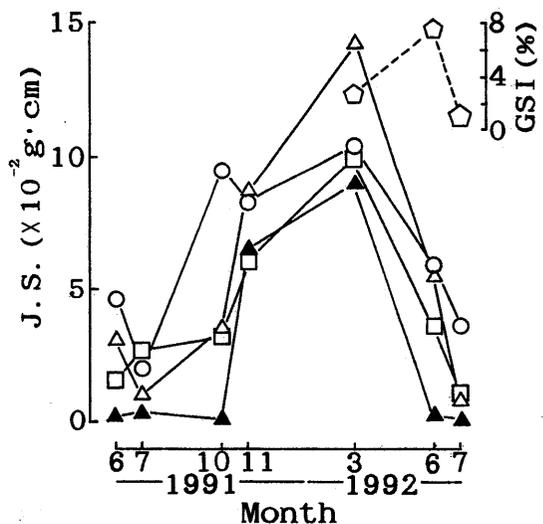


Fig. 1. Seasonal variation in jelly strength of gels formed by heating from salted meat paste of lizard fish.

Jelly strength (g·cm) of the heated gel was measured with a rheometer by using a ϕ 5mm plunger.

Gonadsomatic index shows percentage of gonad weight (g) to body weight (g). J.S., jelly strength; GSI, gonadsomatic index; O, heated at 40°C for 60min; Δ , heated at 60°C for 20min; \blacktriangle , heated at 60°C for 120min; \square , heated at 90°C for 20min; \circ , GSI.

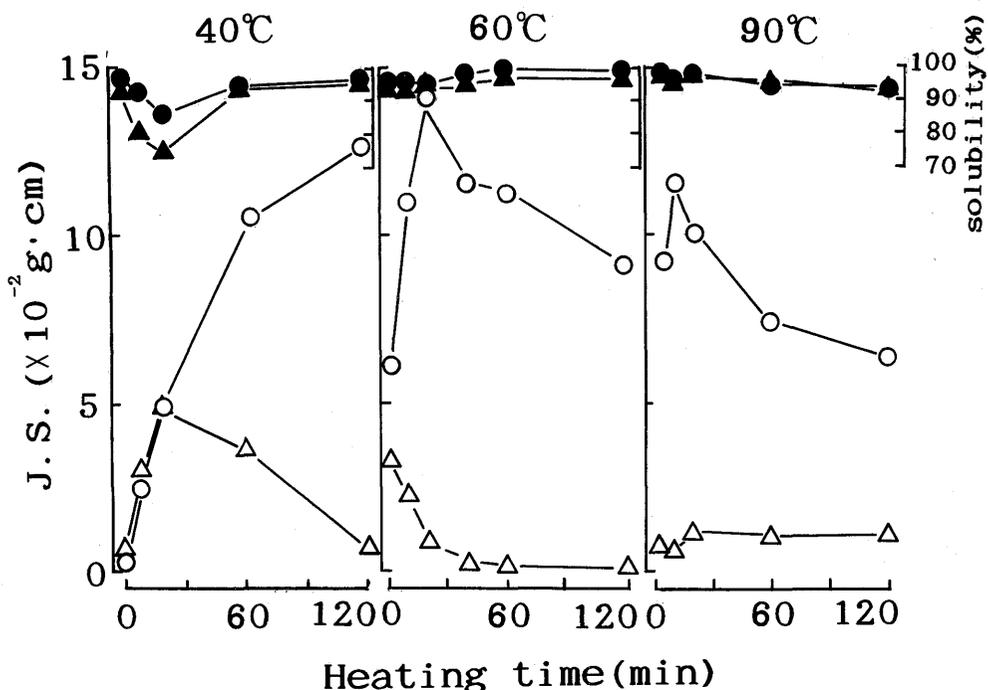


Fig. 2. Changes in the jelly strength of heated gel formed by salted meat paste and the content of solubilized protein in the gel with SDS-urea-mercaptoethanol solution as a function of heating time.

The jelly strength (○, △) was measured as in Fig.1. Then the gel (each 0.4g) was solubilized with 7.5ml of 2% SDS, 8M urea, 2% mercaptoethanol, 20mM Tris-HCl (pH 8.0). The protein concentration was determined by the biuret method, and after the centrifugation (10,000×g, 20min), the protein concentration of the supernatant was determined by the same procedure. Solubility (●, ▲) was calculated the ratio (%) of the protein concentration of the supernatant after the centrifugation (10,000×g, 20min) to the total protein concentration. (○, ●), March,'92; (△, ▲), July,'92.

の季節変化を Fig.1に示した。また、エソの産卵期と考えられた3月～7月については、GSIの測定結果も同図に示した。これによると、40°C加熱、60°C加熱および90°C加熱では、いずれもJ.S.の最も高い時期は11月～3月であり、J.S.の最も低い時期は7月であった。さらにゲル形成能の高い11月と3月の試料は、60°C120分間の加熱でも戻らなかった。また、GSI値から性成熟の度合を検討すると、産卵期直前と考えられる1992年3月から6月にかけてJ.S.は急激に減少し、産卵期直後と考えられる7月は最も低かった。

ゲル形成能と可溶化率の変化 ゲル形成能の最も高い時期である1992年3月と最も低い時期である1992年7月の加熱ゲルのSDS-urea混液に対する可溶化率の経時変化と、それらのJ.S.値をFig.2に示した。これによると40°C加熱では、いずれの季節のものも20分間加熱までのゲル形成初期段階において、

ゲル形成に伴う溶解度は減少し、J.S.は上昇することがわかった。しかし、その後加熱時間が60分を越えると、溶解度が高くなる傾向が見られた。なお、この傾向はゲル強度が高い3月のものでも認められた。戻り温度の60°C加熱では、溶解度はいずれも90%以上であり、高い値を示した。40分加熱以降では、7月の試料は著しい戻りが生じ、一旦形成されたゲルのJ.S.が低下するが、これに伴って、さらに溶解度が高くなる傾向が見られた。3月の試料では、戻りはほとんど生じないが、SDS-urea混液に対するゲルの溶解度は40分加熱以降増大する傾向が見られた。90°C加熱では、溶解度はいずれも90%程度であり、経時的変化は特に認められなかった。

加熱ゲル中の構成タンパク質組成の変化 J.S.が高く、戻りを生じなかった1992年3月の試料とJ.S.が低く、戻りを生じた1992年7月の試料について、その構成タンパク質組成をSDS-PAGEで検討し、

得られた結果を Fig.3に示した。まず60°C加熱の場合, 戻りを生じなかった3月期(Fig.3(a))では, 加熱時間の経過に伴うタンパク質成分の変化は特に認められなかった。しかし, ゲル形成能が最も低下した7月期(Fig.3(b))では, 戻りが顕著に現れた60分加熱以降は, 分子量178kDaのミオシン重鎖と考えられる成分(以下 MHC と略す)が減少し, それに伴い151k, 132k, 112k, 38k, 28k および12kDaの新たな低分子量成分が生成した。坐りが生じる40°C

加熱の場合, 3月期のものは加熱時間の経過に伴い, MHC成分がわずかに減少した。しかし, 7月期のものは, 60分加熱以降は MHC成分がほとんど見えなくなり, 151k および112kDaの成分が明らかに見いだされるようになった。90°C加熱の場合, 加熱に伴う経時的なタンパク質組成の変化は, 3月期および7月期のいずれも特に認められなかった。これらの SDS-PAGEゲル上の各タンパク質成分を, デンシトメーターを用いて定量的に表し, 得られた成分含

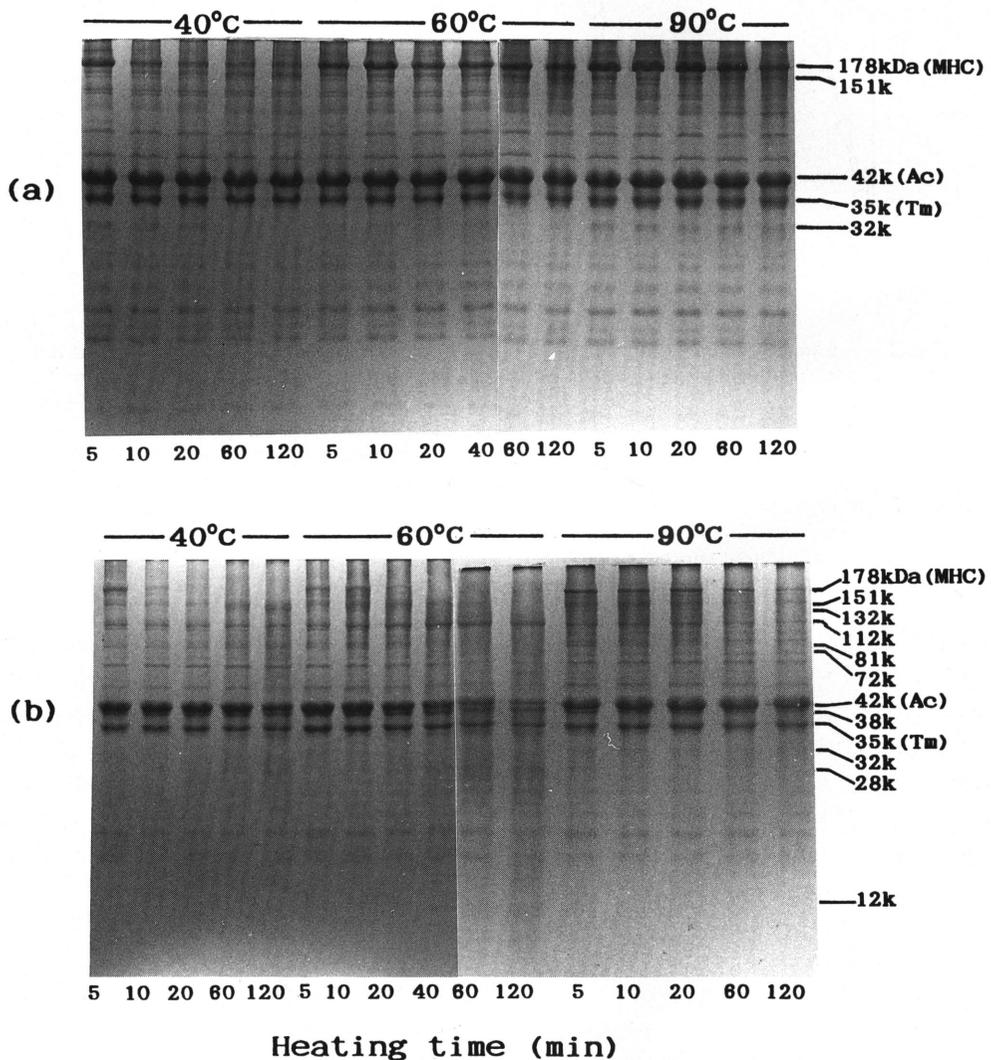


Fig. 3. Changes in SDS-polyacrylamide gel electrophoretic pattern of solubilized protein from the gel with SDS-urea-mercaptoethanol solution as a function of heating time. The gel was solubilized with 2% SDS, 8M urea, 2% 2-mercaptoethanol, 20mM Tris-HCl (pH 8.0), and loaded on 12.5% polyacrylamide gel containing 0.1% SDS. (a), March 16th, 1992; (b), July 13th, 1992; MHC, myosin heavy chain; Ac, actin; Tm, tropomyosin.

量の経時変化を Fig.4 および Fig.5 に示した。なお、MHC より低分子量でアクチン (以下 Ac と略す) より高分子量の成分については Fig.4 (a) と 5 (a) に、Ac より低分子量の成分については Fig.4 (b) と 5 (b) に示した。40°C 加熱では、3 月期のもの (Fig.4) は、泳動ゲル上の全タンパク質含量に対する MHC の占める割合が 23.4% から 16.4% に減少した。7 月期のもの (Fig.5) は、MHC は 5 分間加熱では 10.2% であったが、J.S. が低下した 120 分間加熱では 2.1% に減少し、低分子量成分が増加した。60°C 加熱において、3 月期のものでは特に変化が認められなかった。7 月期のものは、加熱初期では MHC は 9.2% であったが、戻りが生じると経時的に大きく減少し、60 分加

熱以降、MHC は消失した。また、Ac も加熱初期では 20.5% であったが、120 分間加熱後では 6.5% に減少した。それに伴い 40 分間加熱までは、151k, 132k, 112k および 38kDa の成分が新たに生成し、40 分間加熱におけるこれらの成分含量は、それぞれ 5.6, 3.9, 5.8 および 10.8% となった。その後、151k および 132kDa の成分は減少し、120 分間加熱では消失した。しかし、112k および 38kDa の成分はさらに増加し、また 28k および 12kDa の成分が新たに生成して、120 分間加熱ではこれらの成分含量は、それぞれ 6.9, 11.5, 3.8 および 4.5% となった。90°C 加熱では、3 月期および 7 月期のいずれも特に経時的な変化は認められなかったが、7 月期のものは 3 月期のものに比べ

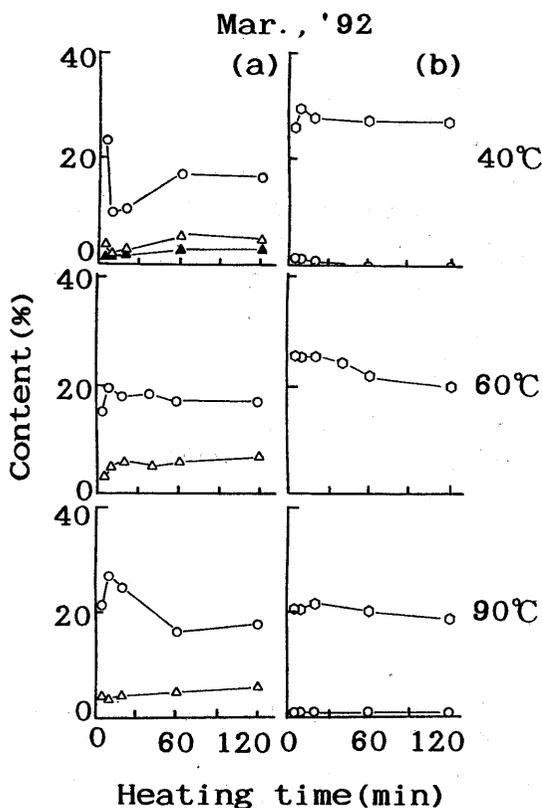


Fig. 4. Changes in subunit composition of myofibrillar protein in heated gel at 40, 60, and 90°C prepared from lizard fish of March, '92. Protein content of the SDS-PAGE gel as in Fig. 3 was calculated by densitometry. (a), high molecular component determined with 8% polyacrylamide gel electrophoresis; ○, 178kDa (MHC); △, 151kDa; ▲, 81kDa; (b), low molecular component determined with 12.5% polyacrylamide gel electrophoresis; ○, 42kDa (Ac); □, 32kDa.

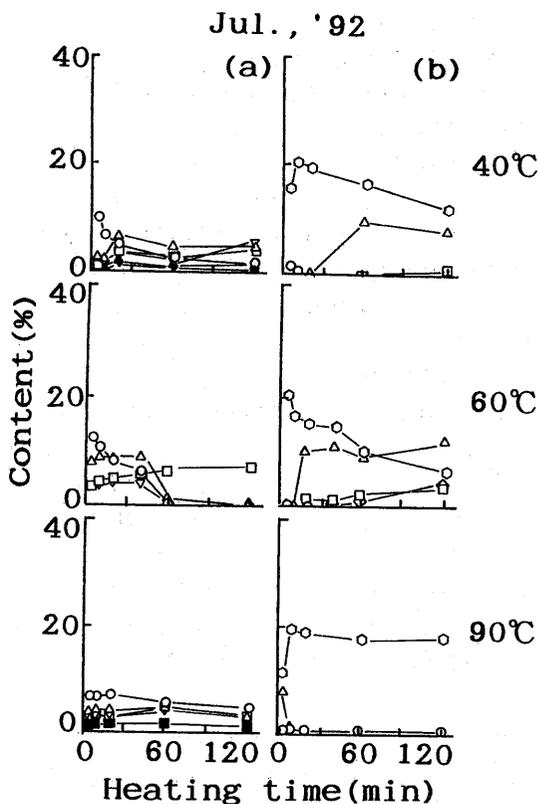


Fig. 5. Changes in subunit composition of myofibrillar protein in heated gel at 40, 60, and 90°C prepared from lizard fish of July, '92. (a), high molecular component determined with 8% polyacrylamide gel electrophoresis; ○, 178kDa (MHC); △, 151kDa; ▽, 132kDa; □, 112kDa; ■, 88kDa; ▲, 81kDa; ▼, 72kDa; (b), low molecular component determined with 12.5% polyacrylamide gel electrophoresis; ○, 42kDa (Ac); △, 38kDa; □, 32kDa; □, 28kDa; ◇, 12kDa.

て、泳動ゲル上の全タンパク質成分に対する MHC の占める割合が低く、3 月期のものが約 20% であるのに対し 7 月期のものは 6% 程度であり、低分子量成分の占める割合が高いという結果を得た。

考 察

長崎県橘湾産のエソ肉糊の加熱ゲル形成能は、明らかに季節変化が認められ、11 月～3 月にかけて最も高いゲル形成能を示す一方、7 月はゲル形成能が低下することがわかった。この時期には、強い戻りが生じることも特徴として認められた。また、ゲル形成能が最も低下した 7 月期は、エソの産卵直後に当たることが示唆された。先に黒川は、長崎県産のマイワシのゲル形成能は産卵前が優れ、産卵後が著しく劣ることを報告しているが、⁶⁾ エソはマイワシと類似した傾向を示している。

また、エソの坐り温度である 40°C 加熱では、ゲル形成の初期では、SDS-urea 混液に対する可溶化率が減少する傾向が見られた。一方、戻り温度の 60°C 加熱では、経時的に一旦形成されたゲルが劣化してゲル強度が低下したが、それに伴い SDS-urea 混液に対する可溶化率がやや増加する傾向が見られた。このことから、坐りの起こる加熱条件では、ゲル強度が上昇すると SDS-urea 混液に対するタンパク質の可溶化率が減少する傾向が見られ、SDS-urea 混液に不溶性成分の生成が初期ゲル形成と関連していることが推察された。しかし、加熱ゲルの形成過程を経時的に詳細に検討した結果、ゲル形成能の高い時期には戻り温度帯で 40～60 分加熱以降に、ゲル強度がそれほど低下しなくても SDS-urea 混液に対する可溶化率が増加することがある (Fig.2) など、完全にゲル強度とタンパク質の SDS-urea 混液への不溶化が一致しているわけではなかった。

一方、SDS-PAGE によるゲル構成タンパク質の分析結果から、坐りに伴い MHC は経時的に減少することが判明したが、これに伴って MHC より低分子量成分の新たな生成はほとんど認められなかった。このことから SDS-urea 混液に対し不溶性になる成分は主として MHC であり、MHC は重合して同溶液に対し不溶化した可能性が考えられる。また、60°C の戻り温度では、ゲル形成能の低下する 7 月期には MHC の減少に伴い低分子量の成分が生成した。ゲ

ル形成能の高い 3 月期のものでは、60°C でも J.S. の低下はほとんど起こらず、低分子量成分の生成は認められなかった。したがって、タンパク質の SDS-urea 混液への可溶化率の変化よりも、むしろ 151k や 112kDa などの新たな低分子量成分の生成が戻り現象と密接な関係があるように思われた。

すでに沼倉らは、スケトウダラ冷凍すり身を用いた実験から、肉糊の坐りによって形成されるゲルは、MHC 間の高分子化反応が起こることによって形成されることを報告しているが、³⁾ 本研究の結果からも坐り温度でのゲル形成初期には、ゲル形成に伴って SDS-urea 混液に不溶性成分の蓄積が起こるものと思われた。また、戻りに伴って SDS-urea 混液に対するゲルの可溶化率がやや上昇したことから、もしゲル形成に伴って沼倉らの指摘するような高分子量成分³⁾ が生成しているとするならば、戻りに際してその高分子化した成分が分解していることも考えられる。

魚の肉糊の戻り現象については、戻りが生じると MHC が酵素的作用⁷⁾ あるいはミオシン中に存在する火戻り活性因子の作用* により分解するという報告がある一方、戻りが生じて MHC の低分子化が起こらないという報告⁸⁾ もある。これらの報告では、季節的な変動との関連性についての検討は行われていない。本研究結果で述べた 60°C における J.S. 低下現象 (戻り) では、季節的変動は認められたものの、どのような要因が関与しているのか未だ不明であり、今後さらに詳細な研究が必要である。

文 献

- 1) 須山三千三・鴻巣章二: 水産加工原料, 水産食品学, 恒星社厚生閣, 東京, 1987, pp.158-159.
- 2) 志水 寛: 主原料の科学, 魚肉ねり製品—理論と応用 (岡田 稔・横関源延・衣巻豊輔編), 恒星社厚生閣, 東京, 1974, pp.55-56.
- 3) 沼倉忠弘・関 伸夫・木村郁夫・豊田恭平・藤田孝夫・高間浩蔵・新井健一: 坐りによる肉糊のゲル形成とミオシンの交差結合反応. 日水誌, **51**, 1559-1565 (1985).
- 4) A. G. Gornall, C. T. Bardawill and M. M. David: Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *J. Biol. Chem.*,

* 志水 寛・西岡不二男: 戻り現象の発現機構に関する研究. 昭和54年度科学研究費補助金(一般研究C)研究成果報告書.

- 177, 751-765 (1949) .
- 5) M. A. Porzio and A. M. Pearson : Improved resolution of myofibrillar proteins with sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis. *Biochim. Biophys. Acta.*, **490**, 27-34 (1977) .
- 6) 黒川孝雄 : 長崎県沿岸海域で漁獲されたマイワシのかまぼこ原料適性. 日水誌, **49**, 1057-1063 (1983) .
- 7) 牧之段保夫 : 戻り. 魚肉ねり製品—研究と技術 (志水 寛編), 恒星社厚生閣, 東京, 1984, pp. 44-46.
- 8) 塚正泰之・志水 寛 : ニシン目及びサケ目魚類筋肉のゲル形成特性. 日水誌, **55**, 529-534 (1989) .